

Estudo colaborativo para avaliação dos teores de matéria mineral em alimentos

Collaborative study to evaluate the mineral content in feeds

SOUZA, Marjorrie Augusto de¹; DETMANN, Edenio^{1*}; BATISTA, Erick Darlison¹;
FRANCO, Marcia de Oliveira¹; VALADARES FILHO, Sebastião de Campos¹; PINA,
Douglas Santos²; ROCHA, Gabriel Cipriano¹

¹Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

²Universidade Federal de Mato Grosso, Departamento de Zootecnia, Sinop, Mato Grosso, Brasil.

*Endereço para correspondência: detmann@ufv.br

RESUMO

Objetivou-se conduzir estudo colaborativo para avaliação do teor de matéria mineral em alimentos em sete laboratórios de análise de alimentos de instituições integrantes do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-CA). Avaliaram-se seis alimentos: feno de capim-braquiária, cana-de-açúcar, silagem de milho grão, farelo de soja, milho e polpa cítrica. Solicitou-se a cada laboratório que as amostras fossem analisadas por seis dias, consecutivos ou não, sendo realizadas três repetições por amostra por dia de avaliação. Foi observado variação entre laboratórios, dias de análise e efeito de interação de material e laboratório. A variação dos resultados entre laboratórios correspondeu de 33,5 a 78,2% da variação aleatória total. Verificou-se que a repetibilidade representou de 8,5 a 51,6% da reprodutibilidade. Observou-se razões de Horwitz superiores a dois para três dos materiais avaliados. Foi constatado que 42,9% das avaliações apresentaram variações das estimativas em função do dia no qual a análise foi realizada. Também foram verificadas diferenças entre procedimentos de avaliação de matéria mineral em função dos diferentes laboratórios. Os teores de matéria mineral estimados pelos laboratórios participantes deste estudo apresentam baixa reprodutibilidade, o que é agravado pela presença de efeito de interação do material avaliado e do laboratório.

Palavras-chave: análise de alimentos, cinzas, métodos de análises

SUMMARY

The objective was to conduct a collaborative study to evaluate the mineral matter contents in feeds in seven feed analysis laboratories from institutions linked to the National Institute of Science and Technology in Animal Science (INCT-CA). Six feeds were evaluated: signal grass hay, sugarcane, corn silage, soybean meal, corn grain and citrus pulp. It was asked to each laboratory that the samples were analyzed for six days, consecutive or not, with three replicates per sample per day of evaluation. Variations were observed among laboratories, days of analysis and interaction effect of material and laboratory. The variation of results among laboratories accounted from 33.5 to 78.2% of the total random variation. It was verified that the repeatability represented 8.5 to 51.6% of reproducibility. It was noticed Horwitz ratios greater than 2 for three materials tested. It was found that 42.9% of the assessments show variations of the estimates as a function of days in which analysis was performed. Differences were also observed between procedures to assess mineral matter according to the different laboratories. The mineral matter contents estimate by each laboratory in this study have low reproducibility, which is aggravated by the interaction effect of material and laboratory.

Keywords: analytical methods, ash, feed analysis

INTRODUÇÃO

A matéria mineral (MM) é constituída pelo resíduo inorgânico obtido após a queima da matéria orgânica, a qual é convertida em CO₂, H₂O e NO₂, e eliminada em conjunto com as substâncias voláteis decompostas pelo calor.

O método consiste basicamente na incineração do alimento em altas temperaturas (normalmente de 500 a 600°C), por tempo suficiente para que ocorra combustão total da matéria orgânica (SILVA & QUEIROZ, 2002; CECCHI, 2003).

Sendo a matéria seca total do alimento formada pelas frações orgânica e inorgânica, o teor de MM em alimentos atua como estimador indireto do conteúdo de componentes orgânicos totais. Adicionalmente, o conhecimento do teor de MM se faz necessário para se conhecer a proporção dos componentes quantificados por diferença em alimentos, como o extrativo não nitrogenado e os carboidratos não fibrosos.

Desta forma, faz-se necessária a avaliação dos procedimentos laboratoriais e das estimativas de MM produzidas em diferentes materiais e por diferentes laboratórios, buscando-se identificar métodos mais adequados e padronizar os procedimentos entre laboratórios de análise de alimentos no país.

Objetivou-se conduzir estudo colaborativo para avaliação do teor de MM em diferentes amostras de alimentos em sete laboratórios de análise de alimentos de instituições integrantes do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-CA).

MATERIAL E MÉTODOS

As avaliações foram conduzidas em sete laboratórios de análise de alimentos de instituições componentes do INCT-CA: Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG; Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG; Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG; Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-BA; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita, Jaboticabal-SP; Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá-MT; e Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop-MT.

Foram avaliadas amostras de seis diferentes alimentos: feno de capim-braquiária, cana-de-açúcar, silagem de milho grão, farelo de soja, milho e polpa cítrica. Em adição, foi enviado composto padrão para aferição da exatidão das estimativas (celite; Sigma C-8656).

As amostras de volumosos úmidos foram secas em estufa com ventilação forçada (60°C) e, em conjunto com as demais amostras, processadas em moinho de facas (1mm), acondicionadas em sacos plásticos e enviadas sem identificação, juntamente com o padrão, aos laboratórios.

Na oportunidade do envio, solicitou-se a cada laboratório que amostras fossem analisadas por seis dias, consecutivos ou não, sendo realizadas três repetições por amostra por dia de avaliação.

Os resultados foram solicitados com base na amostra seca ao ar, uma vez que a avaliação de resultados com correção para o teor de matéria seca de cada amostra entre laboratórios pode apresentar erro oriundo de dois procedimentos (MERTENS, 2003).

Em conjunto com as amostras, enviou-se questionário para elucidação dos principais procedimentos e parâmetros

analíticos quantitativos e qualitativos adotados em cada laboratório.

Após o recebimento dos dados, os teores de MM referentes às amostras foram avaliados de acordo com modelo:

$Y_{ijkl} = \mu + L_i + M_j + LM_{ij} + D_{(ij)k} + \varepsilon_{(ijk)l}$ (1); em que: Y_{ijkl} = teor de MM (%) obtida no laboratório i, no material j, na repetição l avaliada no dia de análise k; μ = constante geral; L_i = efeito do laboratório i (aleatório); M_j = efeito do material j (fixo); LM_{ij} = efeito de interação do laboratório i e material j (aleatório); $D_{(ij)k}$ = efeito do dia de análise k, aninhado à combinação entre o laboratório i e o material j (aleatório); e $\varepsilon_{(ijk)l}$ = erro aleatório, associado a cada mensuração, pressuposto NID (0; σ^2_ε).

Por intermédio do método dos momentos, utilizando-se os

fundamentos do procedimento de Hicks modificado (BARBIN, 1993), definiram-se as esperanças de quadrados médios da análise de variância (Tabela 1).

As observações classificadas como *outliers*, foram eliminadas do conjunto de dados, sendo estas definidas quando seu desvio em relação à média das avaliações do material, dentro do laboratório, superasse em três vezes o valor do desvio padrão residual.

A partir das esperanças de quadrados médios apresentadas na Tabela 1 foi estimada a repetibilidade (r) e a reprodutibilidade (R) dos teores de MM, dadas por (MERTENS, 2003):

$$r = \hat{\sigma}_\varepsilon^2 \quad (2);$$

$$R = \hat{\sigma}_\varepsilon^2 + \hat{\sigma}_L^2 \quad (3);$$

Tabela 1. Esperança de quadrados médios para modelo destinado à análise global dos dados

Fonte de Variação ¹	E(QM) ²
L	$\sigma_\varepsilon^2 + k_1 \times \sigma_{D/L \times M}^2 + k_2 \times \sigma_{L \times M}^2 + k_4 \times \sigma_L^2$
M	$\sigma_\varepsilon^2 + k_1 \times \sigma_{D/L \times M}^2 + k_2 \times \sigma_{L \times M}^2 + k_3 \times \phi_M$
L × M	$\sigma_\varepsilon^2 + k_1 \times \sigma_{D/L \times M}^2 + k_2 \times \sigma_{L \times M}^2$
D/L × M	$\sigma_\varepsilon^2 + k_1 \times \sigma_{D/L \times M}^2$
Resíduo	σ_ε^2

¹ L = laboratório; M = material; L × M = interação laboratório × material, D/L × M = dia aninhado às combinações entre laboratório e material.

² σ_ε^2 , $\sigma_{D/L \times M}^2$, $\sigma_{L \times M}^2$, σ_L^2 = variâncias associadas aos efeitos do erro (repetibilidade), de dia aninhado às combinações entre laboratório e material, da interação de laboratório e material e de laboratório, respectivamente; ϕ_M = função quadrática associada ao efeito de material.

Quando o efeito de interação de material analisado e laboratório foi significativo, procedeu-se a nova avaliação, na qual considerou-se cada material isoladamente. Esclarece-se que na presença de interação, tanto a reprodutibilidade como a repetibilidade estimadas a partir dos componentes de variância obtidos na equação (1) não podem ser utilizadas para representar o comportamento de cada material em

geral. Como são avaliados efeitos aleatórios não é possível realizar o desdobramento em um único modelo. Cabe ressaltar, que efeitos aleatórios não constituem parâmetros da população, mas sim constituem variáveis aleatórias contínuas. Desta forma, um componente de variância comum para laboratório não poderá ser usado para a avaliação de cada um dos materiais. Como o desdobramento em

um único modelo é impossível neste caso, a estimação de componentes de variâncias individuais só é possível com o fracionamento do banco de dados. Desta forma, o desdobramento foi realizado utilizando-se um modelo para avaliação da variação de cada material considerando-se os diferentes laboratórios: $Y_{ijk} = \mu + L_i + D_{(ij)k} + \varepsilon_{(ij)k}$ (4); em que: Y_{ijk} = teor de MM (%) obtida no laboratório i, na repetição k avaliada no dia de análise j; μ = constante geral; L_i = efeito do laboratório i (aleatório); $D_{(ij)}$ = efeito do dia de análise j aninhado ao laboratório i (aleatório); e $\varepsilon_{(ij)k}$ = erro aleatório, associado a cada mensuração, pressuposto NID (0; σ^2_ε). O modelo descrito em (4) foi também utilizado para avaliação da recuperação da MM do padrão. As esperanças de quadrados médios para o modelo descrito em (4) são descritas na Tabela 2. As estimativas de

repetibilidade e reprodutibilidade para cada material foram obtidas de forma similar ao descrito nas Equações (2) e (3).

Para a situação descrita na Tabela 2, procedeu-se à avaliação das estimativas de reprodutibilidade esperada e da razão de Horwitz (HORWITZ et al., 1990) por intermédio das equações:

$$Rp = \frac{\hat{\sigma}_R}{\bar{X}} \quad (5);$$

$$\hat{\sigma}_R = \sqrt{R} \quad (6);$$

$$Rpe = 2 \exp(1 - 0,5 \log c) \quad (7);$$

$$RH = \frac{Rp}{Rpe} \quad (8);$$

em que: Rp = reprodutibilidade padronizada em função da média; Rpe = reprodutibilidade padronizada em função da média estimada pelo método de Horwitz; c = concentração média de MM (g/g); e RH = razão de Horwitz.

Tabela 2. Esperanças de quadrados médios para o modelo destinado à análise de cada material em função dos diferentes laboratórios (Equação 4)

Fonte de Variação ¹	E(QM) ²
L	$\sigma^2_\varepsilon + k_1 \times \sigma^2_{D/L} + k_2 \times \sigma^2_L$
D/L	$\sigma^2_\varepsilon + k_1 \times \sigma^2_{D/L}$
Resíduo	σ^2_ε

¹ L = laboratório; D/L = dia aninhado ao laboratório.

² σ^2_ε , $\sigma^2_{D/L}$, σ^2_L = variâncias associadas aos efeitos do erro (repetibilidade), de dia aninhado ao laboratório e de laboratório, respectivamente.

Quando o efeito de dia de análise foi significativo, procedeu-se ao desdobramento das avaliações conforme explicações apresentadas anteriormente, com a avaliação do comportamento de cada material em cada laboratório por intermédio do modelo: $Y_{ij} = \mu + D_i + \varepsilon_{(ij)}$ (9); em que: Y_{ij} = teor de MM (%) obtida na repetição j avaliada no dia de análise i; μ = constante geral; D_i = efeito do dia de análise i (aleatório); e $\varepsilon_{(ij)}$ = erro

aleatório, associado a cada mensuração, pressuposto NID (0; σ^2_ε).

Por intermédio do método dos momentos (BARBIN, 1993), definiram-se as esperanças de quadrados médios associadas ao modelo descrito em (9) (Tabela 3).

A variação aleatória total associada ao modelo descrito em (9) foi dada por: $\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_\varepsilon^2$ (10).

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.2), adotando-se 0,01 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. As comparações entre médias fornecidas por diferentes

laboratórios foram conduzidas utilizando-se o critério de Scheffé. Por outro lado, a avaliação da recuperação de MM a partir do padrão de acordo com os laboratórios foi realizada utilizando-se as propriedades de intervalos de confiança ($1-\alpha = 0,99$).

Tabela 3. Esperanças de quadrados médios para o modelo destinado à análise de cada material em cada laboratório em função dos dias de análise (Equação 9)

Fonte de Variação ¹	E(QM) ²
D	$\sigma_{\varepsilon}^2 + k_1 \times \sigma_D^2$
Resíduo	σ_{ε}^2

¹ D = dia. ² $\sigma_{\varepsilon}^2, \sigma_D^2$ = variâncias associadas aos efeitos do erro e de dia de análise, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do padrão, não se observou significância ($P > 0,01$) para os componentes de variância. Isto indica que os teores obtidos de MM são independentes do dia em que a análise foi realizada e do laboratório onde as análises foram realizadas, o que constitui condição teórica ideal (Tabela 4). Neste caso, a reprodutibilidade foi constituída única e exclusivamente pela variação entre repetições (repetibilidade). Sob estas condições, em todos os laboratórios verificou-se recuperação completa ($P > 0,01$) da MM oriunda do padrão (Tabela 5).

Contudo, de forma contrária ao verificado para o padrão, observou se

que todos os componentes de variância da avaliação global das amostras foram significativos ($P < 0,01$). Isto indica que, além das diferenças entre laboratórios, os teores estimados de MM se mostram dependentes do dia em que a análise foi realizada e que materiais diferentes produziram estimativas diferentes em função do laboratório no qual a análise foi realizada (Tabela 6). Este comportamento talvez possa ser explicado pela interação complexa dos componentes orgânicos e minerais nas amostras, o que demandaria mais do método em comparação à avaliação de celite. Logo, os resultados obtidos com o padrão não parecem refletir fidedignamente as condições de análise dos laboratórios avaliados.

Tabela 4. Estimativas de componentes de variância do modelo global (padrão; Equação 4)

Item	Estimativa	Valor relativo (%)	Valor-P
σ_L^2	<0,0001	0,0	0,0902
$\sigma_{D/L}^2$	<0,0001	0,0	0,9993
Repetibilidade (σ_{ε}^2)	0,0006	100,0	-
Variância Total	0,0006	100,0	-
Reprodutibilidade	0,0006	-	-
r/R^1	≈ 1	-	-

¹ Razão repetibilidade/reprodutibilidade.

Tabela 5. Recuperação do padrão (g/g) pelos diferentes laboratórios

Item	Celite
Teor Esperado ¹	99,96
Laboratório 1	1,0012
Laboratório 2	1,0010
Laboratório 3	1,0018
Laboratório 4	0,9896
Laboratório 5	1,0019
Laboratório 6	1,0017
Laboratório 7	1,0047

¹O teor esperado de MM no celite foi assumido como 100%, com base na matéria seca. Este valor foi corrigido para o teor de umidade no material, o qual foi estimado por intermédio do método de Karl Fischer (BRUTTEL & SCHLINK, 2006).

Tabela 6. Estimativas de componentes de variância do modelo global (amostras; Equação 1)

Item	Estimativa	Valor relativo (%)	Valor-P
σ^2_L	0,1348	39,3	<0,0001
$\sigma^2_{L \times M}$	0,0835	24,4	<0,0001
$\sigma^2_{D/L \times M}$	0,0613	17,9	<0,0001
Repetibilidade (σ^2_ϵ)	0,0632	18,4	-
Variância Total	0,3428	100,0	-
Reprodutibilidade	0,1980	-	-
r/R ¹	0,3192	-	-
Média	5,6439	-	-

¹ Razão repetibilidade/reprodutibilidade.

De forma geral, assume-se como não aceitável a ocorrência de efeito de interação de material e laboratório (MERTENS, 2003). A ocorrência deste indica que os possíveis erros sistemáticos imputados a um dado material em determinado laboratório serão distintos daqueles observados em outro laboratório. A isto se adiciona o fato de que os erros sistemáticos imputados por um laboratório se manifestarão de forma diferenciada em função do material analisado. Isto atribui elemento de confundimento aos cotejamentos das características químicas de alimentos e outros materiais, como fezes, sobras e digestas; o que, conseqüentemente, pode comprometer a comparação entre

características obtidas em ensaios de digestão.

A interação de material e laboratório é corroborada pela avaliação comparativa das médias obtidas nos diferentes alimentos, na qual se observou alta variação nas diferenças entre laboratórios, não havendo padrão definido nos perfis de comparações múltiplas. Verificou-se que as diferenças entre laboratórios variaram de 0,45 ponto percentual para o milho a 2,61 pontos percentuais para a polpa cítrica (Tabela 7).

Analisando-se os materiais isoladamente, observou-se grande variação na reprodutibilidade (Figura 1), o que parece mais uma vez corroborar o efeito de interação de laboratório e material (Tabela 7).

Tabela 7. Comparação entre médias produzidas pelos diferentes laboratórios para feno, cana-de-açúcar, silagem de milho (SM), farelo de soja (FS), milho, polpa cítrica (PC)

Laboratório	Material ^{1,2}					
	Feno	Cana	SM	FS	Milho	PC
1	7,28 ^c	6,77 ^{bc}	5,53 ^b	5,69 ^{de}	1,06 ^{cd}	5,92 ^d
2	7,45 ^{bc}	7,03 ^{ab}	5,66 ^{ab}	5,99 ^{bc}	1,09 ^{cd}	7,15 ^{ab}
3	7,88 ^a	7,42 ^a	5,67 ^{ab}	6,36 ^a	1,21 ^b	6,84 ^{bc}
4	6,69 ^d	6,21 ^c	5,17 ^c	5,45 ^c	0,94 ^d	4,96 ^e
5	7,64 ^{ab}	7,44 ^a	5,78 ^{ab}	6,12 ^{ab}	1,14 ^{bc}	6,73 ^c
6	7,47 ^{bc}	7,14 ^{ab}	5,68 ^{ab}	5,81 ^{cd}	1,00 ^{cd}	7,39 ^a
7	7,89 ^a	7,33 ^{ab}	5,85 ^a	6,35 ^a	1,39 ^a	7,57 ^a
EPM	0,12	0,13	0,08	0,10	0,07	0,17
ATM ³	1,20	1,23	0,68	0,91	0,45	2,61

¹Médias na coluna, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Scheffé (P<0,01).

²ATM, amplitude total entre médias.

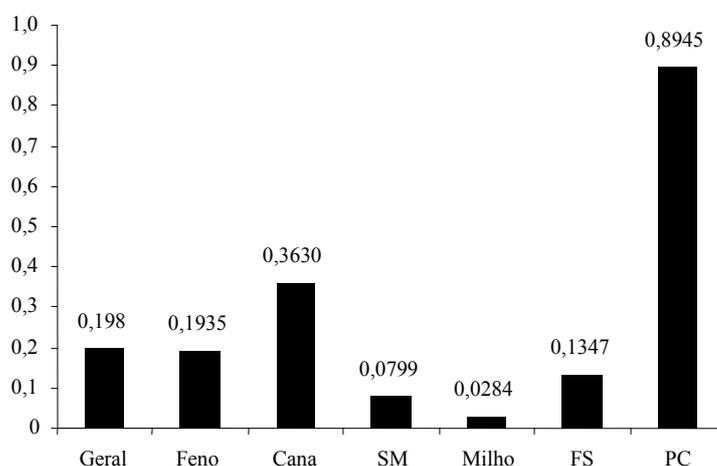


Figura 1. Reprodutibilidade [(%)²] para os diferentes materiais analisados

Na avaliação individual de cada material, observou-se que a variação dos resultados entre laboratórios correspondeu de 33,5 a 78,2 % da variação aleatória total. Adicionalmente, verificou-se que a repetibilidade (variação entre repetições) representou de 8,5 a 51,6 % da reprodutibilidade (Tabelas 8 e 9). O comportamento destes percentuais reitera que diferenças entre laboratórios existem e são significativas quando se analisa os materiais individualmente, correspondendo ao fator preponderante das diferenças entre os teores de MM.

A avaliação da reprodutibilidade, a qual é dada pela soma da repetibilidade e da variação entre laboratórios, apresentou-se em patamares considerados aceitáveis para três dos seis alimentos avaliados. Contudo, razões de Horwitz (RH) superiores a 2 foram verificadas para os demais materiais avaliados (Tabelas 8 e 9). Este parâmetro é dado pela razão entre a reprodutibilidade observada e a reprodutibilidade que deveria ser esperada considerando-se a concentração média do componente analisado (HORWITZ et al., 1990). Pode se concluir que as avaliações não podem ser consideradas adequadamente

reprodutíveis para a metade dos materiais, pois RH superiores a 2 sugerem que o método avaliado é inaceitável com respeito à sua reprodutibilidade (MERTENS, 2003). Assim, os valores estimados de RH indicam que a reprodutibilidade é essencialmente comprometida por diferenças nas condições de análise.

As repetibilidades padronizadas (expressas como percentuais das médias) foram estimadas a partir dos dados expressos nas Tabelas 8 e 9.

Foram verificados valores de 2,60; 6,14; 3,44; 2,90; 9,36 e 4,15 % para feno, cana-de-açúcar, silagem de milho, farelo de soja, milho e polpa cítrica, respectivamente, indicando baixos valores relativos da variação entre repetições. Logo, sendo a

reprodutibilidade dada pela soma da variação entre repetições (repetibilidade) e entre laboratórios, os altos valores de RH (Tabelas 8 e 9) parecem ter sido causados pela elevada variação inter-laboratorial. Considerando-se as informações das tabelas 8 e 9, percebeu-se que ocorreu efeito significativo do dia de análise ($P < 0,01$) sobre as estimativas de MM para todos os materiais exceto para cana-de-açúcar. A avaliação isolada deste efeito para cada material analisado em cada laboratório indicou que 42,9% das avaliações apresentaram variações significativas ($P < 0,01$) das estimativas de MM em função do dia no qual a análise foi realizada (Tabela 10).

Tabela 8. Estimativas de componentes de variância do modelo destinado à avaliação individual de alimentos volumosos (Equação 4)

Item	Estimativa	Valor relativo (%)	Valor-P
Feno			
σ^2_L	0,1557	58,2	<0,0001
$\sigma^2_{D/L}$	0,0741	27,7	<0,0001
Repetibilidade (σ^2_ϵ)	0,0378	14,1	-
Variância Total	0,2676	100	-
Reprodutibilidade	0,1935	-	-
r/R^1	0,1953	-	-
RH	1,6763	-	-
Média	7,47	-	-
Cana-de-açúcar			
σ^2_L	0,1757	43,6	<0,0001
$\sigma^2_{D/L}$	0,0398	9,9	0,0346
Repetibilidade (σ^2_ϵ)	0,1873	46,5	-
Variância Total	0,4028	100,0	-
Reprodutibilidade	0,3630	-	-
r/R^1	0,5160	-	-
RH	2,4021	-	-
Média	7,05	-	-
Silagem de Milho			
σ^2_L	0,0425	39,3	<0,0001
$\sigma^2_{D/L}$	0,0282	26,1	<0,0001
Repetibilidade (σ^2_ϵ)	0,0374	34,6	-
Variância Total	0,1081	100	-
Reprodutibilidade	0,0799	-	-
r/R^1	0,4681	-	-
RH	1,3458	-	-
Média	5,62	-	-

¹Razão repetibilidade/reprodutibilidade.

Tabela 9. Estimativas de componentes de variância do modelo destinado à avaliação individual de alimentos concentrados (Equação 4)

Item	Estimativa	Valor relativo (%)	Valor-P
Farelo de Soja			
σ^2_L	0,1047	56,6	<0,0001
$\sigma^2_{D/L}$	0,0504	27,2	<0,0001
Repetibilidade (σ^2_ϵ)	0,0300	16,2	-
Variância Total	0,1851	100,0	-
Reprodutibilidade	0,1347	-	-
r/R ¹	0,2227	-	-
RH	2,8382	-	-
Média	5,97	-	-
Milho			
σ^2_L	0,0174	33,5	0,0011
$\sigma^2_{D/L}$	0,0235	45,3	<0,0001
Repetibilidade (σ^2_ϵ)	0,0110	21,2	-
Variância Total	0,0519	100,0	-
Reprodutibilidade	0,0284	-	-
r/R ¹	0,3873	-	-
RH	1,6671	-	-
Média	1,12	-	-
Polpa Cítrica			
σ^2_L	0,8187	78,2	<0,0001
$\sigma^2_{D/L}$	0,1522	14,5	<0,0001
Repetibilidade (σ^2_ϵ)	0,0758	7,3	-
Variância Total	1,0467	100,0	-
Reprodutibilidade	0,8945	-	-
r/R ¹	0,0847	-	-
RH	3,9508	-	-
Média	6,64	-	-

¹Razão repetibilidade/reprodutibilidade.

Tabela 10. Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associada à variação entre dias de análises para feno, cana-de-açúcar, silagem de milho (SM), farelo de soja (FS), milho, polpa cítrica (PC)

Laboratório	Material ¹					
	Feno	Cana	SM	FS	Milho	PC
1	0,0095	0,0185	0,0740	<0,0001	0,0180	0,4089
2	0,2676	0,7313	0,8595	0,8466	0,7547	0,6707
3	<0,0001	<0,0001	0,0372	0,0535	0,0006	0,0093
4	0,1908	0,1319	0,2508	0,0144	0,0169	0,0265
5	<0,0001	0,0009	0,1376	0,0011	0,0420	<0,0001
6	0,0085	0,1318	0,0024	0,0012	0,6403	0,0435
7	<0,0001	0,4285	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

A avaliação individual da variação intra-laboratorial (Figura 2), a qual constitui o fator determinante da repetibilidade, indicou que, para alguns materiais, a variação entre dias de

análise pôde representar de 0 (e.g., Figura 3, cana-de-açúcar, laboratório 2) a 98% (e.g. Figura 3, milho, laboratório 7) da variação aleatória dos resultados.

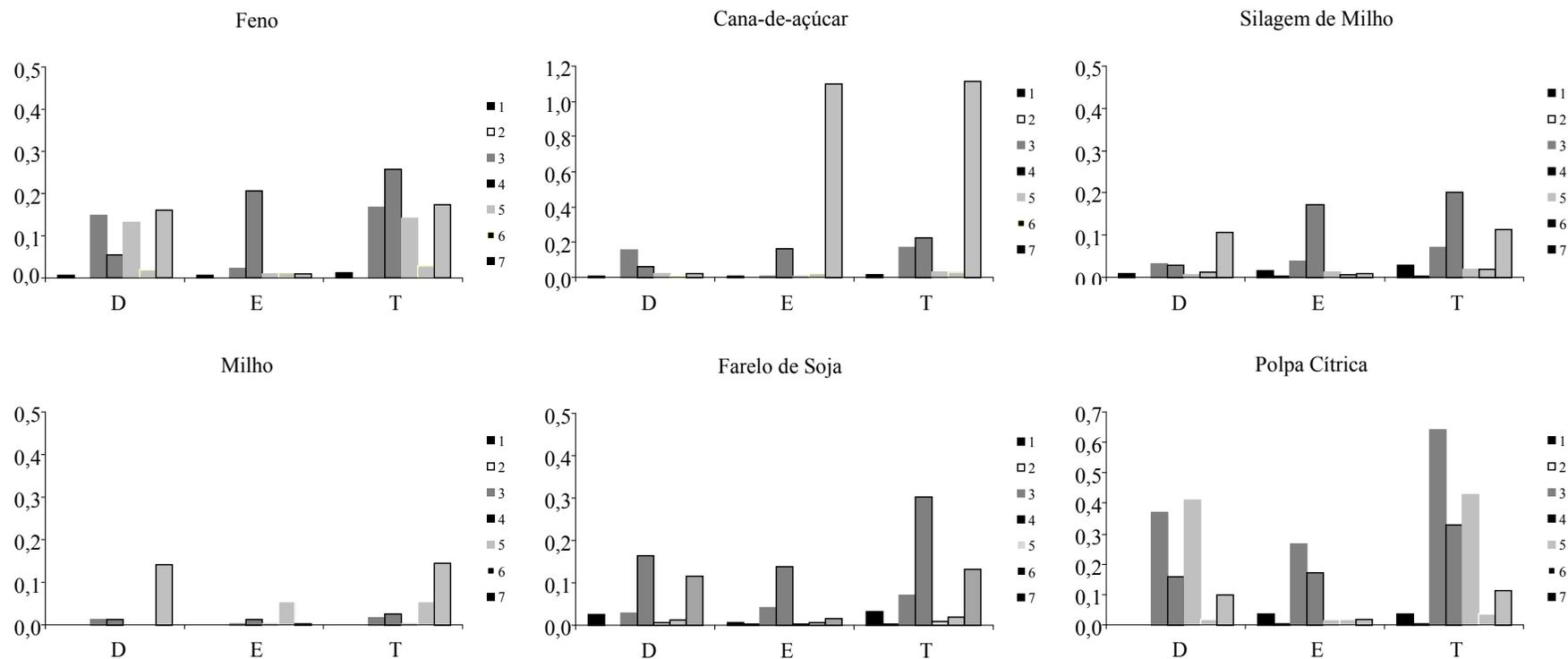


Figura 2. Avaliação das variâncias intra-laboratoriais (D = variância entre dias; E = variância do erro; T = variação aleatória total; T = D + E).

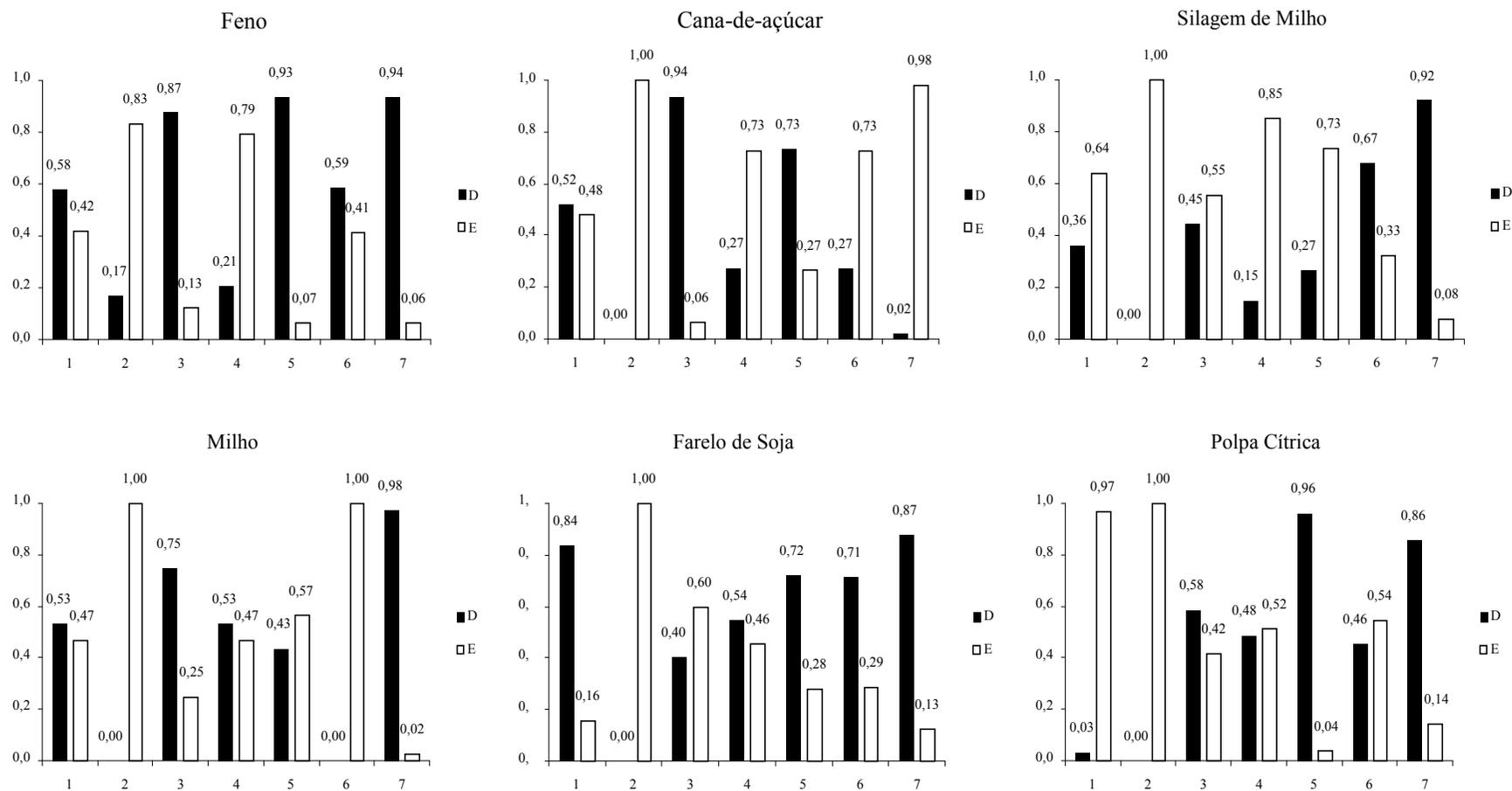


Figura 3. Avaliação fracional da composição da repetibilidade intra-laboratorial (D = contribuição da variância entre dias; E = contribuição da variância do erro).

O comportamento verificado para algumas amostras torna evidente que os resultados obtidos no processo analítico foram diretamente dependentes do dia no qual a análise foi conduzida, o que obviamente é indesejável e pode atribuir efeito de confundimento sobre os teores de MM obtidos. Desta forma, foi evidenciado que problemas atribuídos à falta de padronização dos procedimentos intra-laboratoriais podem ser significativos sobre a precisão das estimativas.

As massas de amostras utilizadas nas avaliações variaram de 1 a 5 gramas (Tabela 11). Embora o método avaliado seja considerado robusto com relação a esta variável (SILVA & QUEIROZ, 2002), a utilização de pequenas massas,

como aquelas utilizadas pelos laboratórios 4, 5 e 6, podem comprometer a exatidão devido a problemas na quantificação gravimétrica causados pelo pequeno resíduo de MM. As recomendações de massa seguem normalmente relação inversa com o teor de minerais na amostra (SILVA & QUEIROZ, 2002); contudo, para a maioria dos materiais, massas próximas a 2 g proporcionaram boa sensibilidade nas avaliações. Adicionalmente, a avaliação das massas de amostras de forma relativa ao recipiente indicou que em alguns laboratórios podem estar sendo utilizadas amostras em demasia, o que pode retardar o processo de eliminação da matéria orgânica (Tabela 11).

Tabela 11. Características gerais do procedimento de avaliação de matéria mineral em função dos diferentes laboratórios

Laboratório	Característica ¹									
	MA	MA/A	MA/V	PPC	CQ	TPQ	TQ	PTT	RM	TRC
1	2	102	25	LA, 105/1	TF	600	3	1800	PA	150-200
2	3-5	239-398	60-100	LA, 600/2	TF	600	4	2400	F	<200
3	2	102	23	LHA, NI ²	TF	590	NI ^{2 3}	NI ²	F	100
4	1	63	16	NI ² , 105/2	TF	600	3	1800	PA	150
5	1	80	20	LA, 105/3	TF	550	3	1650	F	50-60
6	1	80	20	LA, 105/4	TF	600	4	2400	F	150
7	1,5-2	119-159	34-40	LA,105/3	TF	550	4	2200	F	50-60

¹MA = massa de amostra (g); MA/A = relação entre a massa de amostra e a área de abertura do cadinho (mg/cm²); MA/V = relação entre a massa de amostra e o volume do cadinho (mg/cm³); PPC = procedimentos de preparação do cadinho (LA, limpeza com água; LHA = limpeza com ácido e água; o binômio se refere ao procedimento de secagem do cadinho para obtenção das taras - °C/h); CQ = critério para estabelecimento do tempo de queima (TF, tempo fixo); TPQ = temperatura de queima (°C); TQ = tempo de manutenção na temperatura de queima (h); PTT, produto teórico entre a temperatura e o tempo de queima (°C x h); RM, forma de resfriamento da mufla (F, fechada; PA, parcialmente aberta); TRC = temperatura de retirada do cadinho da mufla.

²NI, característica não identificada.

³O procedimento adotado na avaliação não pôde ser identificado, mas declarou-se que o tempo de queima varia em função do material analisado (forragens – 4 horas; concentrados – 6 horas; ossos – 12 horas).

Embora em todos os laboratórios se utilize lavagem dos cadinhos previamente ao uso, os procedimentos de secagem são

variados. Somente no laboratório 2 os cadinhos foram submetidos à calcinação para obtenção das taras (Tabela 11), o que

é geralmente recomendado (CECCHI, 2003; CAMPOS et al., 2004), pois a deposição de pequenas impurezas de natureza orgânica podem incrementar o peso da tara, sendo contudo eliminadas durante a queima da amostra.

Em todos os laboratórios utiliza-se tempo fixo para a queima das amostras (Tabela 11), contudo as temperaturas de queima e o tempo de queima foram variados entre eles. As temperaturas utilizadas foram de acordo com recomendações encontradas na literatura, que vão de 550°C (THIEX & NOVOTNY, 2012) a 600°C (WINDHAM, 1998; SILVA & QUEIROZ, 2002). Entretanto, os tempos de queima foram iguais ou superiores às recomendações encontradas na literatura, as quais variam de 2 (WINDHAM, 1998; CECCHI, 2003) a 3 (CAMPOS et al., 2004; THIEX & NOVOTNY, 2012) horas. No entanto, analisando-se de forma apenas heurística, o produto dado pela temperatura e pelo tempo de queima foi extremamente variado entre laboratórios (Tabela 11), indicando possível influência sobre a reprodutibilidade dos resultados.

Em dois dos laboratórios o resfriamento das amostras foi feito com abertura parcial da mufla, o que não é indicado, pois pode propiciar absorção de umidade pelas amostras localizadas próximas à abertura, principalmente se a temperatura de retirada for baixa. Adicionalmente, a abertura da mufla em altas temperaturas reduz a vida útil do equipamento por causar choques térmicos excessivos sobre o revestimento de cerâmica.

Em três laboratórios a retirada das amostras foi realizada em temperaturas consideradas baixas ($\leq 100^\circ\text{C}$), o que pode propiciar absorção de umidade e, conseqüentemente, distorção da massa de MM (Tabela 11). As temperaturas de retirada de amostras devem estar entre 150 e 200°C. Em todos os laboratórios

utiliza-se dessecador para resfriamento dos cadinhos.

Os teores de matéria mineral estimados pelos laboratórios participantes deste estudo apresentam baixa reprodutibilidade, o que é agravado pela presença de efeito de interação do material avaliado e do laboratório.

AGRADECIMENTOS

Ao INCT-Ciência Animal, ao CNPq, a CAPES e à FAPEMIG (PPM) pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BARBIN, D. **Componentes de variância: teoria e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1993. 120p.
- BRUTTEL, P.; SCHLINK, R. **Water determination by Karl Fischer titration**. Herisau: Metrohm, 2006. 80p.
- CAMPOS, F.P.; NÚSSIO, C.M.B.; NÚSSIO, L.G. **Métodos de análise de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135p.
- CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2 ed. Campinas: Unicamp, 2003. 207p.
- HORWITZ, W.A.; ALBERT, R.; DEUTSCH, M. J.; THOMPSON, J. N. Precision parameters of methods of analysis required for nutrition labeling. Part I. Major nutrients. **Journal of AOAC International**, v.73, p.661-680, 1990.

MERTENS, D.R. Challenges in measuring insoluble dietary fiber.

Journal of Animal Science, v.81, p.3233-3249, 2003.

THIEX, N.; NOVOTNY, N.;
Determination of Ash in Animal Feed:
AOAC Official Method 942.05
Revisited. **Journal of AOAC
International**, v.95, p.1392-1397,
2012.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise
de Alimentos: métodos químicos e
biológicos**. 3 ed. Viçosa, MG:
Universidade Federal de Viçosa, 2002.
235p.

WINDHAM, W.R. Animal feed. In:
ASSOCIATION OF OFFICIAL
ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC
(Ed.). **Official Methods of Analysis of
AOAC International**. 16.ed. 4 rev.
Gaithersburg: AOAC International,
1998.

Data de recebimento: 16/09/2015

Data de aprovação: 20/01/2017